

ALCAMファミリーのドメイン構成

大堀 兼 男

I	はじめに
II	方 法
III	結 果
IV	考 察
V	ま と め

I はじめに

多くのタンパク質はドメイン構造を有するが、機能が異なっても同一のドメイン構造を持つタンパク質のグループをスーパーファミリーと言っている¹⁾。免疫グロブリンスーパーファミリーは、ドメイン内の特定の位置に2個のシステイン残基があり、約100個のアミノ酸からなるドメインを持っている。このドメインは、免疫グロブリン (Ig) ドメインと呼ばれているが、その構造の違いから3種類のサブセットに分類されている。これらは、免疫グロブリンに存在するV-setとC1-set、およびV-setと類似の構造を持つが、C1-setと同様に長さが短いC2-setである²⁾。Igスーパーファミリーに属するタンパク質の中には、これら複数の異なるサブセットを持つタンパク質がある。また、Igスーパーファミリーの一部のタンパク質は、Igドメイン以外に別のドメインを持つ。

CD6は、胸腺細胞、成熟T細胞、一部のB細胞などが発現している膜タンパク質で、スカベンジャー受容体システイン・リッチ (SRCR) ファミリーの一員である³⁾。CD6は、T細胞の成熟などに関係している。この

CD6と相互作用するタンパク質として、ALCAM (activated leukocyte-cell adhesion molecule, CD166) が発見された。ALCAMは、Igスーパーファミリーに属し、5個のドメインを持つ。ドメインは、V-setが2個、C2-setが3個である⁴⁾。本論文では、V-setとC2-setの二種類のドメインを持つタンパク質ALCAMについて、ドメイン構造を検討し、Igスーパーファミリーにおけるドメイン構成の進化について考察したい。

II 方 法

タンパク質の検索には、以前の論文³⁾と同様に国立遺伝学研究所にあるタンパク質データベースPIR⁵⁾を利用した。アミノ酸配列が類似したタンパク質の検索には、Fasta⁶⁾を用いた。また、タンパク質内のドメインの決定には、SBASEを利用した。

複数のタンパク質の配列のマルチプルアライメントから類似性を計算し、系統樹を作成

1) Dayhoff, M.O., "The origin and evolution of protein superfamilies", *Fed. Proc.*, Vol.35, 1976, 2132~2138.

2) 大堀兼男「免疫グロブリンスーパーファミリー蛋白質の構造」『実験医学』第7巻第2号, 1989年, 278~281.

3) 大堀兼男「SRCRスーパーファミリーのドメイン構造」『環境と経営』第3巻第1号, 1997年, 85~96.

4) Bowen, M.A., Patel, D.D., Li, X., Modrell, B., Malacko, A.R., Wang, W.C., Marquardt, H., Neubauer, M., Pesando, J.M., and Francke, U., "Cloning, mapping, and characterization of activated leukocyte-cell adhesion molecule (ALCAM), a CD6 ligand", *J. Exp. Med.*, Vol.181, 1995, 2213~2220.

5) George, D.G., Barker, W.C., Mewes, H.W., Pfeiffer, F., and Tsugita, A., "The PIR-international protein sequence Database", *Nucleic Acids Res.*, Vol.22, 17, 3569~3573.

6) Pearson W.R., "Rapid and sensitive sequence comparison with FASTP and FASTA", *Method Enzymol.*, Vol.183, 1990, 63~98.

した。系統樹の作成には、ClustalW1.74⁷⁾を使用した。

Ⅲ 結 果

1 ALCAMファミリー

ALCAMのドメイン構成を図1に示した。ALCAMは膜タンパク質であり、細胞外にある5個のIgドメインは2個がV-set, 3個がC2-setで、N末端からV-V-C2-C2-C2という構成になっている。このような構造を持つタンパク質をタンパク質データベースで検索し、12種類のタンパク質を見出した。このうち、ニワトリのSC1, BEN, DM-GRASPはその配列の類似性から同一のタンパク質とみなされる。そこで、この3種類のタンパク質はSC1によって代表した。また、ウサギおよびイヌ由来のALCAMは、完全な配列が得られていないので、配列全体の比較には用いなかった。以上より、8種類のタンパク質の全配列について比較し、図2のように系統樹を作成した。図2からわかるように、ヒト由来のALCAM⁴⁾, マウス由来のALCAM⁸⁾, ラット由来のHB2⁹⁾, ニワトリ由来のSC1¹⁰⁾

図1 ALCAMとRAGEのドメイン構成

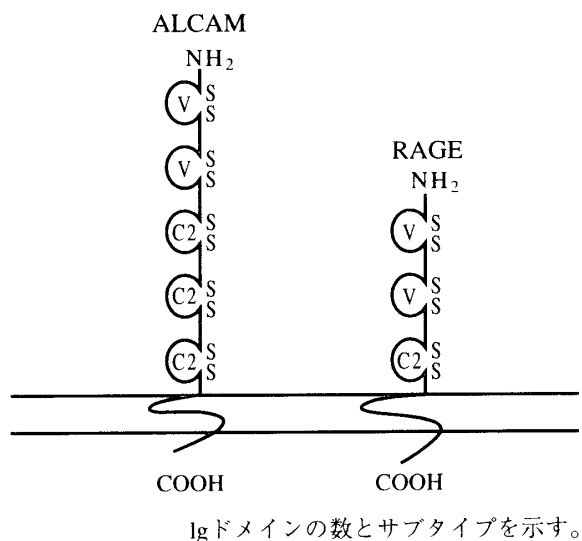
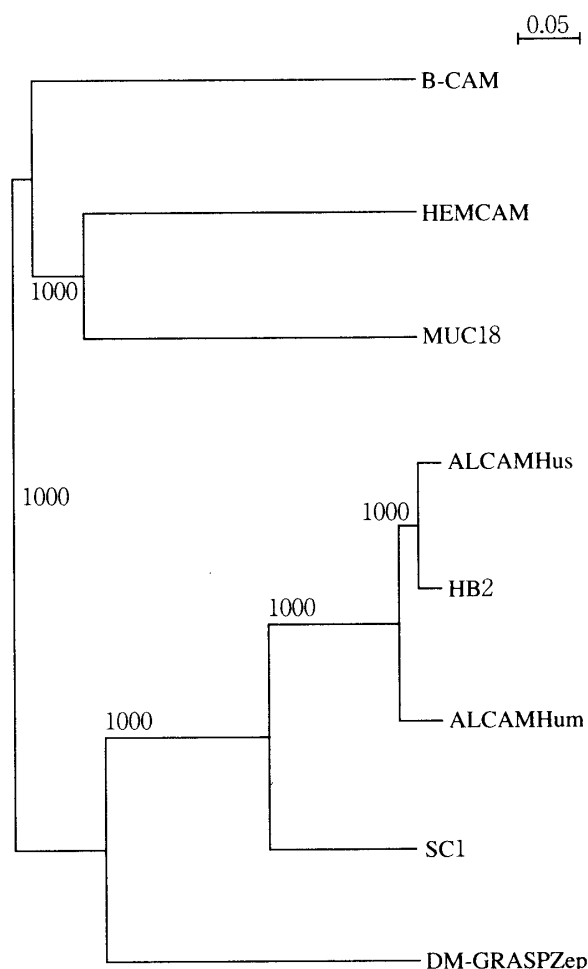


図2 ALCAMファミリーの系統樹



7) Thompson, J.D., Higgins, D.G. and Gibson, T.J., "CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice", *Nucleic Acids Res.*, Vol.22, 1994, 4673~4680.

8) Bowen, M.A., Bajorath, J., DEgidio, M., Whitney, G. S., Palmer, D., Kobarg, J., Starling, G.C., Siadak, A. W. and Aruffo, A., "Characterization of mouse ALCAM (CD166): The CD6 binding domain is conserved in different homologues and mediates cross-species binding", *Eur. J. Immunol.*, Vol.27, 1997, 1469~1478.

9) Matsumoto, A., Mitchell, A., Kurata, H., Pyle, L., Kondo, K., Itakura, H., and Fidge, N., "Cloning and characterization of HB2, a candidate high density lipoprotein receptor. Sequence homology with members of the immunoglobulin superfamily of membrane proteins", *J. Biol. Chem.*, Vol.272, 1997, 16778~16782.

10) Tanaka, H., Matsui, T., Agata, A., Tomura, M., Kubota, I., McFarland, K.C., Kohr, B., Lee, A., Phillips, H.S., and Shelton, D.L., "Molecular cloning and expression of a novel adhesion molecule, SC1", *Neuron*, Vol. 7, 1991, 535~545.

およびzebra fish由来のDM-GRASP¹¹⁾は、一つのグループに属することがわかった。これをALCAMファミリーと名付ける。また、HEMCAM¹²⁾、MUC18¹³⁾、B-CAM¹⁴⁾はこのALCAMファミリーとは別のグループを形成していた。これらをMUC18ファミリーと名付ける。

ヒト由来のALCAMに対する各タンパク質の類似性を表1に示した。ヒトのALCAMに対して、マウスALCAMとHB2とは、同一のアミノ酸の割合は90%であるが、ニワトリのSC1では74.2%、zebrafishでは36.9%に下がる。さらに、MUC18ファミリーとは、類似性は20%に過ぎない。

表1 ヒトALCAMに対する同一性

タンパク質	%
HB2	93.1
ALCAMMus	92.7
SC1	74.2
DM-GRASPZep	36.9
B-CAM	24.1
HEMCAM	23.5
MUC18	22.2

2 ALCAMファミリーの各ドメインに対する類似タンパク質

ALCAMの5個のドメインごとに、類似タンパク質を検索した。ドメイン1 (V-set)では、表2に示したように、ALCAMファミリー内での同一性は、高いことが認められたが、他のタンパク質では、類似したものは見られず、もっとも類似性が高い免疫グロブリンでも20%未満であった。

表2 ヒトALCAMの各ドメインと類似性を持つタンパク質 (同一アミノ酸の割合を%で示した。)

1) V-set

ドメイン 1		ドメイン 2	
タンパク質	%	タンパク質	%
HB2	94.3	ALCAMRab	89.9
ALCAMMus	94.3	ALCAMDog	87.9
SC1	83.0	HB2	84.8
DM-GRASPZep	35.2	ALCAMMus	82.8
HEMCAM	22.3	SC1	59.6
IgkppV	20.7	DM-GRASPZep	27.3
IgKV2	20.9	DM-GRASPGol	25.3
IgKV1	19.8	RAGEHum	29.0
IglmdC	19.5	RAGEMus	27.0
MUC18	19.1	RAGEBov	27.0
		RAGERat	26.0
		HEMCAM	31.3
		MUC18	24.2
		B-CAM	23.8

2) C2-set

ドメイン 3		ドメイン 4		ドメイン 5	
タンパク質	%	タンパク質	%	タンパク質	%
ALCAMDog	95.3	ALCAMDog	97.8	HB2	100.0
ALCAMRab	94.2	ALCAMMus	96.7	ALCAMMus	98.9
ALCAMMus	91.9	HB2	97.8	ALCAMRab	98.9
HB2	89.5	ALCAMRab	91.1	ALCAMDog	97.8
SC1	73.3	SC1	81.1	SC1	76.4
DM-GRASPZep	43.0	DM-GRASPGol	45.6	GM-GRASPGol	30.3
DM-GRASPGol	41.9	DM-GRASPZep	44.4	DM-GRASPZep	31.5
B-CAM	27.7	B-CAM	30.1	NCAMBov	23.9
FcgRIIc4	21.8	RAGEHum	22.3	NCAMHum	23.9
FcgRIIb	21.8	RAGEMus	21.3	NCAMRat	22.8
LAMP	21.8	RAGERat	20.2	NCAMMus	22.8
chLAMP	20.7				
GP55A	20.7				

- 11) Kanki, J.P., Chang, S. and Kuwada, J.Y., "The molecular cloning and characterization of potential chick DM-grasp homologs in the zebrafish and mouse", *J. Neurobiol.*, Vol.25, 1994, 831~845.
- 12) Vainio, O., Dunon, D., Aissi, F., Dangy, J.P., McNagney, K.M. and Imhof, B.A., "HEMCAM, an adhesion molecule expressed by c-kit+ hemopoietic progenitors", *J. Cell Biol.*, Vol.135, 1996, 1655~1668.
- 13) Lehmann, J.M., Riethmueller, G., and Johnson, J.P., "MUC18, a marker of tumor progression in human melanoma, shows sequence similarity to the neural cell adhesion molecules of the immunoglobulin superfamily", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, Vol.86, 1989, 9891~9895.
- 14) Campbell, I.G., Foulkes, W.D., Senger, G., Trowsdale, J., Garin-Chesa, P., and Rettig, W.J., "Molecular cloning of the B-CAM cell surface glycoprotein of epithelial cancers: a novel member of the immunoglobulin superfamily", *Cancer Res.*, Vol.54, 1994, 5761~5765.

ドメイン2 (V-set) では, ALCAMファミリーおよびMUC18ファミリー以外のタンパク質では, receptor for advanced glycosylation end products of proteins (RAGE)¹⁵⁾ と26~29%の類似性があった。RAGEは, 内皮細胞に存在する膜タンパク質で, advanced glycosylation end products of proteinsと結合する。そのドメイン構成は, V-setが2個, C2-setが1個で, V-V-C2となっている (図1)。

ドメイン3 (C2-set) では, ALCAMファミリー以外には, B-CAM, 免疫グロブリンFcレセプター¹⁶⁾, GP55A¹⁷⁾, LAMP¹⁸⁾, chLAMP¹⁹⁾との類似性が約20%見られた。これらのタンパク質の中で, GP55A, LAMP, chLAMPはopioid-binding cell adhesion proteins (OBCAM)²⁰⁾と同一のドメイン構成をしており, 一つのファミリーを形成している。

ドメイン4 (C2-set) では, ALCAMファミリー内では高い類似性が認められた。また, そ

れ以外ではRAGEと20%の類似性が見られた。

ドメイン5 (C2-set) では, ALCAMファミリー内では他のドメインよりも高い類似性があり, またNCAM²¹⁾とも22~23%の類似性が認められた。以上まとめると, ALCAMファミリーとMUC18ファミリーとの間では, ドメイン2が高い類似性を示し, ドメイン1とドメイン5では類似性が低かった。また, RAGEとALCAMのそれぞれのドメイン2およびRAGEのドメイン3とALCAMのドメイン4で類似性が認められた。ALCAMファミリーのドメイン3~ドメイン5では, それぞれ各ドメインに対して異なるタンパク質と類似性が見られた。

3 MUC18ファミリーの各ドメインに対する類似タンパク質

MUC18ファミリーの各ドメインについても, ALCAMファミリーと同様に類似したタンパク質を検討した。ドメイン1とドメイン2は, ALCAMファミリーと同様に類似したドメインを持つタンパク質は検索できなかった。そこで, ドメイン3~ドメイン5について, MUC18ファミリーの各タンパク質ごとに類似タンパク質を検討した。

1) MUC18

ドメイン3は, ALCAMファミリー以外に, VCAM²²⁾, LAMP, ch LAMPとの類似性が21~26%の範囲で認められた。ドメイ

- 15) Neeper, M., Schmidt, A.M., Brett, J., Yan, S.D., Wang, F., Pan, Y.C., Elliston, K., Stern, D. and Shaw, A., "Cloning and expression of a cell surface receptor for advanced glycosylation end products of proteins", *J. Biol. Chem.*, Vol.267, 1992, 14998~15004.
- 16) Brooks, D.G., Qiu, W.Q., Luster, A.D., and Ravetch, J.V., "Structure and expression of human IgG FcRII (CD32): functional heterogeneity is encoded by the alternatively spliced products of multiple genes", *J. Exp. Med.*, Vol.170, 1989, 1369~1385.
- 17) Wilson, D.J.A., Kim, D.S., Clarke, G.A., Marshall-Clarke, S. and Moss, D.J., "A family of glycoproteins (GP55) which inhibits neurite outgrowth are members of the Ig Superfamily and are related to OBCAM, Neurotrimin, LAMP and CEPU-1", *J. Cell Sci.*, Vol.109, 1996, 3129~3138.
- 18) Pimenta, A.F., Fischer, I., and Levitt, P., "cDNA cloning and structural analysis of the human limbic-system-associated membrane protein (LAMP)", *Gene*, Vol.170, 1996, 189~195.
- 19) Brummendorf, T., Spaltmann, F. and Treubert, U., "Cloning and characterization of a neural cell recognition molecule on axons of the retinotectal system and spinal cord", *Eur. J. Neurosci.*, Vol.9, 1997, 1105~1116.
- 20) Shark, K.B., and Lee, N.M., "Cloning, sequencing and localization to chromosome 11 of a cDNA encoding a human opioid-binding cell adhesion molecule (OBCAM)", *Gene*, Vol. 155, 1995, 213~317.

- 21) Barton, C.H., Dickson, G., Gower, H.J., Rowett, L.H., Putt, W., Elsom, V., Moore, S.E., Goridis, C., and Walsh, F.S., "Complete sequence and in vitro expression of a tissue-specific phosphatidylinositol-linked N-CAM isoform from skeletal muscle", *Development*, Vol.104, 1988, 165~173.
- 22) Cybulsky, M.I., Fries, J.W.U., Williams, A.J., Sultan, P., Eddy, R., Byers, M., Shows, T., Gimbrone Jr., M.A., and Collins, T., "Gene structure, chromosomal location, and basis for alternative mRNA splicing of the human VCAM 1 gene", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, Vol. 88, 1991, 7859~7863.
- 23) McCuaig, K., Rosenberg, M., Nedellec, P., Turbide, C., and Beauchemin, N., "Expression of the Bgp gene and characterization of mouse colon biliary glycoprotein isoforms", *Gene*, Vol.127, 1993, 173~183.

表3 MUC18の各ドメインと類似性を持つタンパク質
(同一アミノ酸の割合を%で示す)

ドメイン 3		ドメイン 4		ドメイン 5	
タンパク質	%	タンパク質	%	タンパク質	%
HEMCAM	32.2	HEMCAM	27.7	HEMCAM	29.1
B-CAM	22.7	RAGEBov	26.6	B-CAM	28.7
DM-GRASPGol	25.0	RAGEHum	24.5	DM-GRASPZep	20.5
DM-GRASPZep	26.1	RAGERat	24.5	DM-GRASPGol	20.5
ALCAMHum	25.0	RAGEMus	22.3	REGA-1	28.1
ALCAMDog	23.9	irreCsrt	25.5	RTK	27.3
ALCAMRab	23.9	CD22	25.0	SMP	26.7
HB2	23.9	CD22b	24.2	amalgam	26.1
ALCAMMus	23.9	bgpAMus	22.3	PANG	23.9
SC1	22.7	bgpCMus	21.8	BIG-2	23.9
VCAMPor	25.0	bgpBMus	21.8	BISM	23.9
VCAMHum	26.1	bgpEMus	21.3	CHL1	22.5
VCAMDog	25.0	CAM-105	22.3	neuroglian	22.5
LAMP	21.6	klg	22.0	chLAMP	22.2
chLAMP	21.6			BNFRMus	21.3
				BNFRRat	20.2

ン 4 は, RAGE, biliary glycoprotein(bgp)²³⁾, CD22²⁴⁾, irreCsrt²⁵⁾, CAM-105²⁶⁾, klg²⁷⁾ と 21~26% の範囲で類似性が認められた。ドメイン 5 は, 多くのタンパク質と類似性が認められた。これらのタンパク質は, BISM²⁸⁾,

BIG-2²⁹⁾, PANG³⁰⁾, BNFR³¹⁾, RTK³²⁾, schwann cell myelin protein (SMP)³³⁾, amalgam³⁴⁾, chL1³⁵⁾, neuroglian³⁶⁾, chLAMPであった。各ドメインごとに異なるタンパク質と類似性が認められた。

2) HEMCAM

ドメイン 3 では, CD33³⁷⁾, CD22, SMP,

- 24) Wilson, G.L., Najfeld, V., Kozlow, E., Menniger, J., Ward, D., and Kehrl, J.H., "Genomic structure and chromosomal mapping of the human CD22 gene", *J. Immunol.*, Vol.150, 1993, 5013~5024.
- 25) Ramos, R.G.P., Igloi, G.L., Lichte, B., Baumann, U., Maier, D., Schneider, T., Brandstaetter, J.H., Froehlich, A., and Fischbach, K.F., "The irregular chiasm C-roughest locus of Drosophila, which affects axonal projections and programmed cell death, encodes a novel immunoglobulin-like protein", *Genes Dev.*, Vol. 7, 1993, 2533~2547.
- 26) Culic, O., Huang, Q.H., Flanagan, D., Hixson, D., and Lin, S.H., "Molecular cloning and expression of a new rat liver cell-CAM105 isoform. Differential phosphorylation of isoforms", *Biochem. J.*, Vol.285, 1992, 47~53.
- 27) Chou, Y.H., and Hayman, M.J., "Characterization of a member of the immunoglobulin gene superfamily that possibly represents an additional class of growth factor receptor", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, Vol.88, 1991, 4897~4901.
- 28) Mimmack, M.L., Saito, H., Evans, G., Bresler, M., Keverne, E.B. and Emson, P.C., "A novel splice variant of the cell adhesion molecule BIG-2 is expressed in the olfactory and vomeronasal neuroepithelia", *Brain Res. Mol. Brain Res.*, Vol.47, No. 1 - 2, 1997, 345~350.

- 29) Yoshihara, Y., Kawasaki, M., Tamada, A., Nagata, S., Kagamiyama, H. and Mori, K., "Overlapping and differential expression of BIG-2, BIG-1, TAG-1, and F3: four members of an axon-associated cell adhesion molecule subgroup of the immunoglobulin superfamily", *J. Neurobiol.*, Vol.28, No. 1, 1995, 51~69.
- 30) Connelly, M.A., Grady, R.C., Mushinski, J.F., and Marcu, K.B., "PANG, a gene encoding a neuronal glycoprotein, is ectopically activated by intracisternal A-type particle long terminal repeats in murine plasmacytomas", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, Vol.91, 1994, 1337~1341.
- 31) Klein, R., Parada, L.F., Coulier, F., and Barbacid, M., "trkB, a novel tyrosine protein kinase receptor expressed during mouse neural development", *EMBO J.*, Vol. 8, 1989, 3701~3709.
- 32) Jennings, C.G., Dyer, S.M., and Burden, S.J., "Muscle-specific trk-related receptor with a kringle domain defines a distinct class of receptor tyrosine kinases", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, Vol.90, 1993, 2895~2899.
- 33) Dulac, C., Tropak, M.B., Cameron-Curry, P., Rossier, J., Marshak, D.R., Roder, J., and Le Douarin, N.M., "Molecular characterization of the schwann cell myelin protein, SMP: structural similarities within the immunoglobulin superfamily", *Neuron*, Vol. 8, 1992, 323~334.
- 34) Seeger, M.A., Haffley, L., and Kaufman, T.C., "Characterization of amalgam: a member of the immunoglobulin superfamily from Drosophila", *Cell*, Vol.55, 1988, 589~600.
- 35) Holm, J., Hillenbrand, R., Steuber, V., Bartsch, U., Moos, M., Luebbert, H., Montag, D. and Schachner, M., "Structural features of a close homolog of L1 (CHL1) in the mouse: a novel member of the L1 family of neural recognition molecules", *Eur. J. Neurosci.* Vol. 8, 1996, 1613~1629.
- 36) Chen, C.L., Lampe, D.J., Robertson, H.M. and Nardi, J.B., "Neuroglian is expressed on cells destined to form the prothoracic glands of Manduca embryos as they segregate from surrounding cells and rearrange during morphogenesis", *Dev. Biol.*, Vol.181, No. 1, 1997, 1~13.
- 37) Takei, Y., Sasaki, S., Fujiwara, T., Takahashi, E., Muto, T., and Nakamura, Y., "Molecular cloning of a novel gene similar to myeloid antigen CD33 and its specific expression in placenta", *Cytogenet. Cell Genet.*, Vol.78, 1997, 295~300.

mb-1³⁸⁾と類似性が認められた。ドメイン4では、CD22と類似性があった。ドメイン5では、VCAM, amalgam, LIG-1³⁹⁾, pE4⁴⁰⁾と類似性があった。

表4 HEMCAMの各ドメインと類似性を持つタンパク質
(同一アミノ酸の割合を%で示した)

ドメイン3		ドメイン4		ドメイン5	
タンパク質	%	タンパク質	%	タンパク質	%
MUC18	36.7	MUC18	27.1	MUC18	30.9
B-CAM	28.7	ALCAMMus	20.0	DM-GRASPGol	28.8
DM-GRASPGol	32.6	HB2	20.0	DM-GRASPZep	26.3
DM-GRASPZep	33.7	ALCAMHum	20.0	LIG-1	24.1
ALCAMRab	24.7	ALCAMDog	20.0	VCAMHum	22.5
ALCAMHum	22.5	SC1	21.1	VCAMRat	22.5
ALCAMDog	22.5	CD22b	22.7	amalgam	22.2
ALCAMMus	22.5	CD22	22.7	pE4	20.7
HB	22.5				
SC1	23.6				
CD33	27.0				
SMP	27.0				
CD22	25.8				
CD22b	25.8				
mb-1	24.2				

3) B-CAM

ドメイン3では、chLAMP, LAMP, OBCAM, GP55A, neurotrimin⁴¹⁾と類似性が認められた。これらのタンパク質は、OBCAMファミリーを構成している。ドメイン4では、VCAMと類似性が認められた。ドメイン5は、VCAM, SMP, telencephalin⁴²⁾,

表5 B-CAMの各ドメインと類似性を持つタンパク質
(同一アミノ酸の割合を%で示す)

ドメイン3		ドメイン4		ドメイン5	
HEMCAM	42.7	ALCAMMus	27.7	MUC18	25.5
MUC18	29.2	HB2	27.7	VCAMMus	26.9
DM-GRASPZep	30.6	ALCAMHum	27.7	VCAMPor	26.9
DM-GRASPGol	29.4	ALCAMDog	27.7	VCAMHum	24.7
ALCAMHum	30.6	ALCAMRab	28.7	SMP	25.8
ALCAMDog	29.4	DM-GRASPGol	22.3	telencephalin	23.9
ALCAMRab	29.4	DM-GRASPZep	22.3	hemolin	23.9
SC1	25.9	VCAMHum	24.2	amalgam	23.4
GP55A	26.4	VCAMDog	25.3		
chLAMP	26.4	VCAMPor	26.3		
LAMP	26.4				
OBCAMHum	23.0				
OBCAMBov	23.0				
OBCAMRat	21.8				
neurotrimin	21.8				

amalgam, hemolin⁴³⁾と約20%の同一性を示していた。

以上、MUC18ファミリーのドメインは、ALCAMファミリーのドメインと類似している以外は、様々なIgスーパーファミリーのタンパク質と低い類似性を持つことが認められた。特に、RAGEやVCAMのあるドメインとの類似性が認められた。B-CAMにおいては、ドメイン4とドメイン5においてVCAMのドメインとの類似性があった。

4 RAGEの各ドメインに対する類似タンパク質

RAGEも、ALCAMと同様にIgスーパーファミリーの一員であり、そのドメイン構成は、V-setが2個、C2-setが1個であり、ALCAMよりもドメイン数が2個(C2-set)少ない。RAGEの第2ドメインのV-setと第3ドメイン

38) Youn, H., "Two forms of the mb-1 gene transcript in cattle", *J. Immunol.* Vol.154, 1994, 5127~5132.

39) Suzuki, Y., Sato, N., Tohyama, M., Wanaka, A., and Takagi, T., "cDNA cloning of a novel membrane glycoprotein that is expressed specifically in glial cells in the mouse brain: LIG-1, a protein with leucine-rich repeats and immunoglobulin-like domains", *J. Biol. Chem.*, Vol.271, 1996, 22522~22527.

40) Chadeneau, C., LeMoullac, B., and Denis, M.G., "A novel member of the immunoglobulin gene superfamily expressed in rat carcinoma cell lines", *J. Biol. Chem.*, Vol.269, 1994, 15601~15605.

41) Struyk, A.F., Canoll, P.D., Wolfgang, M.J., Rosen, C.L., D'Eustachio, P., and Salzer, J.L., "Cloning of neurotrimin defines a new subfamily of differentially expressed neural cell adhesion molecules", *J. Neurosci.* Vol.15, 1995, 2141~2156.

42) Yoshihara, Y., Oka, S., Nemoto, Y., Watanabe, Y., Nagata, S., Kagamiyama, H. and Mori, K., "An ICAM-related neuronal glycoprotein, telencephalin, with brain segment-specific expression", *Neuron*, Vol.12, 1994, 541~553.

43) Sun S.C., Lindstroem I., Boman H.G., Faye I., and Schmidt O., "Hemolin: an insect-immune protein belonging to the immunoglobulin superfamily", *Science*, Vol.250, 1990, 1729~1732.

表6 ヒトRAGEのドメイン3と類似性を持つタンパク質

タンパク質	%
RAGEBov	81.4
RAGERat	69.6
RAGEMus	70.6
MUC18	24.3
B-CAM	20.4
perlecan	35.2
CEAHum	25.5
KIAA0230	25.0
SMP	24.8
Ng-CAM	23.9
tursup	23.4
bgpEMus	21.6
bgpAMus	21.6

のC2-setが、それぞれALCAMの第2ドメインと第4ドメインとに類似している。RAGEの第2ドメインはALCAMファミリー以外には、免疫グロブリンとだけ類似性が認められた。また、RAGEの第3ドメインを他のタンパク質と比較すると、ALCAMファミリーよりも高い類似性を持つものが認められた(表6)。これらのタンパク質は、perlecan⁴⁴⁾, bgp, CEA⁴⁵⁾, KIAA0230⁴⁶⁾, SMP, Ng-CAM⁴⁷⁾, tursup⁴⁸⁾であった。なお、ドメイン1と類似のタンパク質は見つけられなかった。

5 VCAMの各ドメインに対する類似タンパク質

MUC18ファミリーと類似性の高いドメインを持つVCAMについて、各ドメインの類似

性を比較した。VCAMには、長さの異なるタンパク質があるが、ここでは一番長いドメインを7個持つものを対象とした。各ドメイン間の類似性を表7に示した。VCAMはドメイン1とドメイン4, ドメイン2とドメイン5, ドメイン3とドメイン6とが類似性が高く、ドメイン1～ドメイン3とドメイン4～ドメイン6とは、重複したドメイン構造といえる。一方、ドメイン7はもっとも高い類似性のあるドメイン3に対しても28.1%しか同じではなく、他のドメインとの類似性は低といえ、独立したドメインである。

表7 ヒトVCAMの各ドメイン間の同一性

d1	----
d4	70.7 ----
d3	21.7 28.3 ----
d6	20.7 23.9 60.7 ----
d2	11.9 12.8 13.8 10.1 ----
d5	12.8 13.8 15.6 15.6 59.8 ----
d7	10.9 10.9 28.1 27.0 10.1 11.9 ----
	d1 d4 d3 d6 d2 d5 d7

MUC18ファミリーと類似性が高いドメインは、ドメイン3なので、このドメインと類似性の高い免疫グロブリンスーパーファミリーのタンパク質について検索した。この結果を表8に示す。VCAMのドメイン3と類似性の高いドメインをもつ免疫グロブリンスーパーファミリーのタンパク質は多数認められた。これらはいくつかのグループにまとめられる。すなわち、神経細胞の接着タンパク質

44) Murdoch, A.D., Dodge, G.R., Cohen, I., Tuan, R.S., and Iozzo, R.V., "Primary structure of the human heparan sulfate proteoglycan from basement membrane (HSPG 2/perlecan) A chimeric molecule with multiple domains homologous to the low density lipoprotein receptor, laminin, neural cell adhesion molecules, and epidermal growth factor", *J. Biol. Chem.*, Vol.267, 1992, 8544~8557.

45) Oikawa, S., Nakazato, H., and Kosaki, G., "Primary structure of human carcinoembryonic antigen (CEA) deduced from cDNA sequence", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Vol.142, 1987, 511~518.

46) Nagase, T., Seki, N., Ishikawa, K., Ohira, M., Kawarabayashi, Y., Ohara, O., Tanaka, A., Kotani, H., Miyajima, N. and Nomura, N., "Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. VI. The coding sequences of 80 new genes (KIAA0201-KIAA0280) deduced by analysis of cDNA clones from cell line KG-1 and brain", *DNA Res.*, Vol.3, 1996, 321~329.

47) Burgoon, M.P., Grumet, M., Mauro, V., Edelman, G.M., and Cunningham, B.A., "Structure of the chicken neuron-glia cell adhesion molecule, Ng-CAM: origin of the polypeptides and relation to the Ig superfamily", *J. Cell Biol.*, Vol.112, 1991, 1017~1029.

48) Nigro, J.M., Cho, K.R., Fearon, E.R., Kern, S.E., Ruppert, J.M., Oliner, J.D., Kinzler, K.W., and Vogelstein, B., "Scrambled exons", *Cell*, Vol.64, 1991, 607~613.

であるcontactin⁴⁹⁾, F3⁵⁰⁾, F11⁵¹⁾, axonin-1⁵²⁾, TAG-1⁵³⁾, NCAMなど, つぎに胆汁タンパク質であるbgp, 免疫細胞のCD22, 受容体タンパク質のBNFR, VEGFR⁵⁴⁾である。

表8 ヒトVCAMのドメイン3と類似性を持つタンパク質

タンパク質	%	タンパク質	%
VCAMRat	83.1	bgpEMus	26.3
VCAMMus	82.0	bgpAMus	26.3
VCAMPor	82.0	bgpHHum	24.5
contactin-1	29.0	NCRA	24.5
F3	28.0	CEA	23.4
F11	29.0	VEGFR	25.5
TAG-1	26.9	BNFRRat	25.5
Ng-CAM	26.1	BNFRHum	24.5
Nr-CAM	24.7	CD22	25.6
neurofascin	24.7	CD22b	26.7
axonin-1	23.7	perlecan	27.8
NCAM	23.4	hspg	25.5
SMP	25.8	amalgam	22.8
MAGRat	23.6	hemolin	23.3
		GM-GRASPGol	23.6

49) Berglund, E.O., and Ranscht, B., "Molecular cloning and in situ localization of the human contactin gene (CNTN1) on chromosome 12q11-q12", *Genomics*, Vol.21, 1994, 571~582.

50) Gennarini, G., Cibelli, G., Rougon, G., Mattei, M.G., and Goridis, C., "The mouse neuronal cell surface protein F3: a phosphatidylinositol-anchored member of the immunoglobulin superfamily related to chicken contactin", *J. Cell Biol.*, Vol.109, 1989, 775~788.

51) Bruemendorf, T., Wolff, J.M., Frank, R., and Rathjen, F.G., "Neural cell recognition molecule F11: homology with fibronectin type III and immunoglobulin type C domains", *Neuron*, Vol. 2, 1989, 1351~1361.

52) Zuellig, R.A., Rader, C., Schroeder, A., Kalousek, M.B., von Bohlen und Halbach, F., Osterwalder, T., Inan, C., Stoeckli, E.T., Affolter, H.U., Fritz, A., Hafen, E., and Sonderegger, P., "The axonally secreted cell adhesion molecule, axonin-1. Primary structure, immunoglobulin-like and fibronectin-type-III-like domains and glycosyl-phosphatidylinositol anchorage", *Eur. J. Biochem.*, Vol.204, 1992, 453~463.

53) Hasler, T.H., Rader, C., Stoeckli, E.T., Zuellig, R.A., and Sonderegger, P., "cDNA cloning, structural features, and eucaryotic expression of human TAG-1/axonin-1", *Eur. J. Biochem.*, Vol.211, 1993, 329~339.

54) Eichmann, A., Marcelle, C., Breant, C., and Le Douarin, N.M., "Molecular cloning of Quak 1 and 2, two quail vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor-like molecules", *Gene*, Vol.174, 1996, 3~8.

IV 考 察

アミノ酸配列の類似性により, ALCAMファミリーとしてまとめられるタンパク質のグループが認められた。ALCAMは, 主に活性化した白血球細胞にある膜タンパク質で, T細胞と他の細胞との接着に関与している。また, ニワトリ由来のSC-1/BEN/DM-GRASPも, 細胞接着タンパク質で, 神経組織のneurite outgrowthに関与している。一方, ALCAMと結合するタンパク質は, CD6であることが知られている。CD6のドメインの中で膜に一番近いドメインとALCAMのN末端のドメインとが相互作用する⁵⁵⁾。CD6とBEN(SC1)との結合が確認され, ALCAMファミリーには, CD6結合部位が保存されていることが認められた。ドメイン1は脊椎動物のALCAMファミリー内では, 80%以上の高い類似性を示しており, 構造の保存とともに同一の機能を保持していることが示唆される。HB2は, マウスのALCAMと97.3%の類似性があり, ヒトのALCAMとも93.1%の類似性を示している。したがって, HB2はラットのALCAM類似体といえる。HB2は, もともとマクロファージからHDLというリポタンパク質の受容体として見つけられた。このように, ALCAMファミリーのタンパク質は, 細胞接着という機能を持つが, また別の機能も持っていると思われる。

ALCAMファミリーは, 免疫グロブリンスーパーファミリーに属するが, ドメインにV-setとC2-setの二種類のサブタイプを持っている。これらのドメインの構成がどのようにして出来上がったのか, 類似タンパク質の検索によって検討した。検索の方法として, 各ドメインごとに類似性の検索を行なった。この結果, 一番高い類似性を示したのは,

55) Skonier, J. E., Bowen, M. A., Emswiler, J., Aruffo, A., and Bajorath, J., "Recognition of diverse proteins by members of the immunoglobulin superfamily: delineation of the receptor binding site in the human CD6 ligand ALCAM", *Biochemistry*, Vol.35, 1996, 12287~12291.

MUC18ファミリーとRAGEだった。RAGEは、ドメインが3個あり、V-setを2個、C2-setを1個持ち、ALCAMファミリーやMUC18ファミリーのドメイン構成とは異なる。また、すべてのドメイン同士で類似性が認められたわけではなく、V-setとC2-setのドメイン各1個ずつが高い類似性を示した。したがって、RAGEとALCAMの祖先タンパク質は、V-setとC2-setとを1個ずつもったものと考えられ、その後それぞれのグループが、ドメインの重複により作られたと考えられる。ALCAMはzebra fishなどの魚類にも存在することから、ALCAMの出現時期は、魚の出現までたどれる。ALCAMのドメイン3～ドメイン5は、それぞれ異なるIgスーパーファミリーのタンパク質と類似性が見い出されているが、類似性は低い。したがって、ドメインの重複はかなり古い出来事だと思われる。また、ALCAMファミリーとMUC18ファミリーは、ドメイン構成が同じにもかかわらず、ドメイン3～ドメイン5の間ではかなり類似性が低く、この2つのグループもかなり以前に別れたことが推定される。さらに、MUC18ファミリー内もドメイン3～ドメイン5での類似性は低く、このことはドメインの機能と配列の変化との間に何らかの関係が示されていると思われる。

MUC18ファミリーのC2-setタイプのドメインは、VCAMと類似性が認められた。また、VCAMはいくつかのタンパク質と類似性があり、これらのタンパク質の中にはALCAMファミリーやMUC18ファミリーのドメインと類似性のあるものが認められた。すなわち、Igスーパーファミリーの中にVCAMを含むサブグループの存在が示唆される。VCAMは、ドメイン数の異なるタンパク質が知られているが、一番ドメイン数の多いものは、7個である。このドメインは、相互に類似性が高いドメインが1組ずつ、3個あることが認められた。すなわち、3個のドメインが重複して、6個となってできたものと考えられる。このうち、MUC18ファミリーのC2-setのドメイン

と類似しているのは、VCAMのドメイン3あるいはドメイン6である。MUC18とVCAMは、どちらが古いかという問題が出てくる。この点については、遺伝子の構造から推測できるかもしれない。すなわち、MUC18のドメインは、複数のエクソンから出来上がっている⁵⁶⁾が、VCAMのドメインはエクソン1個に対応する。Igドメインは、もともと50個ぐらいのアミノ酸からできたドメインが重複して、出来たものと考えられている⁵⁷⁾ので、MUC18の方がVCAMに比べて古い構造を保っていると思われ、その起源は古いことが考えられる。

V ま と め

ALCAMファミリーのドメイン構造と類似したIgスーパーファミリーのグループとして、MUC18やRAGEなどが認められるが、各グループをドメインごとに比較していくとかなり類似性が低いことがわかった。タンパク質の構造の進化においては、ドメインの重複は主要な機構であることから、低い類似性はドメインの重複がかなり古い時期に起こったことを示していると思われる。しかし、異なるドメインの水平移動による機構も考えられ、さらに多くのタンパク質の一次構造の情報が必要である。

56) Sers, C., Kirsch, K., Rothbacher, U., Riethmuller, G., and Johnson, J.P., "Genomic organization of the melanoma-associated glycoprotein MUC18 : implications for the evolution of the immunoglobulin domains", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, Vol.90, 1993, 8514~8518.

57) Hill, R.L., Delaney, R., Fellows, JR., R.E., and Lebovitz, H.E., "The Evolutionary Origins of the Immunoglobulins", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, Vol.56, 1966, 1762~1769.